中華農業研究 (Jour. Agric. Res. China) 49(1): 57～62 (2000)

微生物接種對於火鶴花(*Anthurium andraeanum*)組織培養苗生育之影響[1]

吳繼光 林素禎 林淑媛[2] 莊耿彰[3]

摘要：叢枝內生菌根菌(*Glomus intraradices* Schenck & Smith)在天南星科火鶴花組織培養苗自試管移出後在溫室的馴化期間，可以順利感染植株根部並有促進幼苗生長的效果。添加溶磷細菌與固氮細菌對於菌根菌的接種效果並不顯著。叢枝內生菌根菌與火鶴花所合成的菌根為典型的囊叢枝內生菌根，但只有根外菌絲及接近表皮2~3層細胞內的菌絲較容易被染劑（acid fuchsin）染上顏色；其餘根內感染構造雖可在高倍穿透式顯微鏡下觀察到；但囊泡及叢枝體則不易在解剖顯微鏡下分辨。叢枝內生菌根菌接種於火鶴花後，並沒有出現在根內產孢的特性。

關鍵詞：菌根菌、溶磷菌、固氮菌、火鶴花、*Glomus intraradices*。

前　　言

火鶴花(*Anthurium andraeanum* Andre)是原生於中南美洲的天南星科(Araceae)多年生之草本花卉，同科之作物如粗肋草、彩葉芋、萬年青、黃金葛、蔓綠絨、合果芋、白鶴芋、海芋等都是本省相當重要的觀賞花卉。火鶴花主要是著生型之草本植物，具有氣生的鬚根，革質的單葉螺旋排列在短縮的莖上，而其所謂的"花"則由花梗、苞片及肉穗花序所組成。火鶴花進入成年期後，依循一葉一花的發育模式生長，在花芽發育初期會有一段休眠期，而後再繼續發育，期間則因品種及栽培環境而異，一般在低溫及低光下所須時間較長。在花芽發育的過程中若遇到不適當的環境逆境，則會導致花芽的畸型或停止生長 (3)。

火鶴花的繁殖方式包括有種子繁殖、截頂繁殖、莖節繁殖、分株繁殖等方式，1980年 J. Kunisaki (4) 發表利用葉片及莖頂進行火鶴花組織培養技術後，組織培養成為火鶴花種苗繁殖的主要商業生產途徑，並加速品種的推廣。

有關天南星科的植物接種叢枝內生菌根菌以及其菌根形態的相關文獻仍十分欠缺。本文首次報導火鶴花組織培養苗在移出試管後的馴化期間，接種叢枝內生菌根菌與對照組間的生長差異，並就其菌根感染形態進行觀察。

材料與方法

一、供試材料與品種：經由試管移出的火鶴花組培苗(*A. andraeanum var.* "Tropical")。組織培養經常採

1. 行政院農業委員會農業試驗所　研究報告第2014號。
2. 本所農化系副研究員、助理研究員、約僱助理。 臺灣省、臺中縣 、霧峰鄉。
3. 本所園藝系助理研究員。 臺灣省、臺中縣 、霧峰鄉。

用植株的幼嫩葉片進行，在誘發不定芽後增殖，再移入發根培養基中讓組培苗發根後供馴化爲小苗，經由組織培養得來的種苗可確保不帶有大部份的病害病源，但對毒素病(Dsheen mosaic virus, Cucumber mosaic virus)及細菌性葉枯病(bacteria blight, *Xanthomonas campestris* pv. *deiffenbachiae*)仍需進一步之檢定。採取火鶴花幼葉沖洗後以無菌水淋洗2-3次，以1%之NaOCl滅菌15分鐘後將葉片切爲1公分大小，置於含1/2MS大量元素及全量微量元素、0.5ppm thiamine-HCl、0.4ppm pyridoxine、0.5ppm nicotinic acid及0.1ppm 2.4-D、1ppm BA，調整pH爲5.8後，加入 3%之蔗糖並以0.8%之洋菜固化之培養基中，以暗處理誘導癒合組織(Callus)產生，經增殖後移入前述不含生長素之培養基（MS大量元素改爲1/4並加入100ppm glutamine、0.1ppm biotin）促使發根後移出馴化及接種處理[8, 10]。培養期間: 一九九七年九月二十日~一九九八年七月十四日。

二、供試菌種：(1)叢枝內生菌根菌(SM-113, *G. intraradices*)之接種密度爲200個孢子/株，接種方法爲菌土與栽培介質混合均勻後，種植火鶴花之組培苗。(2)溶磷細菌(TARI-93121301)：自行政院農委會農業試驗所之試驗田土與自製堆肥(雞糞、鋸木屑堆肥)以選擇性培養基篩選出可溶解磷酸鈣之菌株[6]。(3)游離性固氮細菌(TARI-94121508)：菌株來源與溶磷細菌一樣，亦由行政院農委會農業試驗所之試驗田及自製堆肥中篩選而得，以選擇性培養基[13]培養。溶磷細菌與游離性固氮細菌培養一週後，菌液以離心法分離培養液與菌體，培養液倒棄，收集菌體，菌體加水稀釋至定量體積。菌液使用時之菌數約爲10^7 cpu/ ml。接種方法爲將培養菌液離心，以蒸餾水稀釋至10^6 cpu/ml，接種量爲每盆10 ml，接種方法爲將菌液澆在火鶴花組培苗之周圍。對照組則每盆添加10ml的蒸餾水。接種菌根菌日期: 1998年7月14日。接種溶磷及固氮菌日期：1998年7月19日。

三、試驗地點：行政院農委會農業試驗所花圃 (遮陰80%)。

四、栽培介質：泥炭土與珍珠石，以1:1(v/v)混合均勻。介質pH：種植前，泥炭土+珍珠石之pH爲7～7.5；種植後未接種之對照組pH爲6.3；菌根菌+溶磷菌+固氮菌組pH爲6.5；菌根菌組pH爲6.5。栽培期間除定期給水外，並不另施化學肥料。

五、試驗設計：採完全逢機設計。處理包括對照組(CK)，菌根菌(VA)，以及菌根菌+溶磷菌+固氮菌(VA+PS+NF)共有3個處理。每一處理各10重複。收穫時（1999年3月2日），就葉長、葉柄長、葉數、葉寬，菌根的感染率等進行調查[12]。

結果與討論

火鶴花組培苗移出試管後，株高約2～3公分。經接種叢枝內生菌根菌7.5個月後，對照組平均葉柄長度爲46.2公分；但接種菌根菌組則增長爲99.2公分(圖1)。若將溶磷細菌、游離性固氮細菌與菌根菌共同接種於火鶴苗的根圈，其促進火鶴花苗生長的效果與單獨接種菌根菌組並沒有顯著差異(表1)。反觀，菌根菌接種後根部之感染率爲41.7%，但接種溶磷細菌、固氮細菌與菌根菌之複合接種處理其感染率只有22.5%。溶磷菌與游離性固氮細菌的接種會造成感染率下降的現象，在百日草及矮性洋桔梗的接種試驗中也曾得到相同的結果[5]。但在過去的研究中均指出游離性固氮細菌如*Azospirillum*與叢枝菌根菌共同接種將有助於小米（*Pennisteum glaucum* (L.) R. Br.）[11]、玉米、黑麥草（*Lolium perenne* L.）[2]等菌根菌感染率的提升。可能的機制被認爲與游離性固氮細菌所產生的植物荷爾蒙有關[1]。溶磷細菌接種也曾被報導有類似提高菌根菌感染率的效果[1]。但在本次試驗中，爲何溶磷菌與游離性固氮細菌的接種會造成菌根菌感染率下降的原因，是由於細菌種類的不同所造成的差異，還是由於相互競爭碳源而造成植物本身的負擔，或者另有其它原因，則有待進一步的探討。

經檢視火鶴花與*G. intraradices*所形成的菌根爲典型的囊叢枝內生菌根。但其感染方式仍有其特殊

圖1. 火鶴花接種叢枝內生菌根菌(*G. intraradices*)後(右)，生長勢較對照組(左)佳。

Fig. 1. Growth response of *A. andraeanum after inoculated with G. intraradices (right), was better than control (left).*

表1: 火鶴花組培苗接種叢枝內生菌根菌及根圈微生物後對於生育的影響

Table 1. Growth responses of *A. andraeanum* inoculated by VA mycorrhizalfungi and rhizobacterias

Treatments[z]	Leaf no.	Leaf length	Leaf width	Leaf stalk length	Colonization%
CK	4.5b[y]	37.5b	21.7b	46.2b	0.4b
LITR	5.8a	74.2a	42.0a	99.2a	41.7a
LITR+PS+NF	5.3a	72.3a	39.0a	95.4a	22.5a

[z] CK: control, LITR: *G. intraradices*, PS: phosphate-solubilizing bacteria, NF: nitrogen-fixing bacteria.

[y] Means followed by the same letter within the same column are not significantly different at 5% level by LSD test.

的地方(圖2～5)。首先本菌種並沒有經由根毛進入根內，反而是經由某些選定的表皮細胞進入。可能是這些表皮細胞的細胞壁較薄的關係。菌絲先在表皮細胞的接觸點上稍為膨大形成所謂的接著器(appressorium)，然後再以菌絲捲的方式纏繞進入根部皮層(圖3～5)。菌絲在根外或靠進表皮2～3層細胞的地方較容易被酸性洋紅染劑(acid fuchsin)染上顏色。根內靠近內皮層的菌絲及其它感染構造如囊泡及叢枝體等則不易染上顏色(圖4)。菌絲在根內行進的方式以在細胞內生長（intracellular growth）爲主(圖5)。*Glomus intraradices*在百喜草、百合、甘藷及高粱等宿主植物均能輕易被酸性洋紅染劑或其它嗜酸性染劑染上顏色。由於酸性洋紅染劑是屬於酸性染劑，在酸性的環境下才會與菌絲結合產生紅色反應，因此推測可能是由於火鶴花的根部分泌鹼性物質且累積在根內，造成根內部pH較高，根內菌絲不易被染上顏色所致。或是由於表皮細胞壁較厚，染劑不易滲透入根內所造成。叢枝內生菌根菌的菌絲染色除了受植物本身的限制外，菌種間也有類似的差異存在。 例如: *Glomus occultum* Walker, *G. leptotichum* Schenck & Smith, *G. fecundisporum* Schenck & Smith, *G. tortuosum* Schenck & Smith等菌根菌，其所形成菌根的根內菌絲及其它感染構造均不易被酸性染劑染上顏色[7, 9]。此外，由於*G. intraradices*具有根內產孢的特性，但在本植物根內卻絲毫沒有表現出這種特性來。有關這些現象造成的原因，皆有待繼續探討證實。

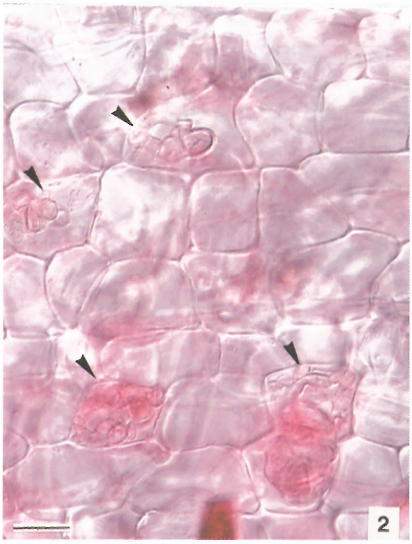

圖2. 叢枝內生菌根菌(*G. intraradices*)在火鶴花根部某些表皮細胞內形成菌絲捲。箭頭所示為菌絲捲。比例尺所示長度為30μm。

Fig. 2. Hyphal coils in epidermal cells (arrowheads) formed by *G. intraradices*. Scale bar=30μm.

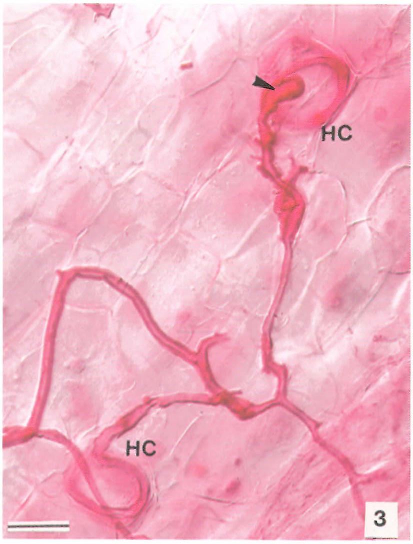

圖3. 叢枝內生菌根菌(*G. intraradices*)在火鶴花根部表皮細胞上形成接著器，並以菌絲捲方式向內纏繞穿入。箭頭所示為接著器。比例尺所示長度為30μm。

Fig. 3. After forming an appressorium on epidermal cell (arrowhead), *G. intraradices* penetrates root by hyphal coils (HC). Scale bar=30μm.

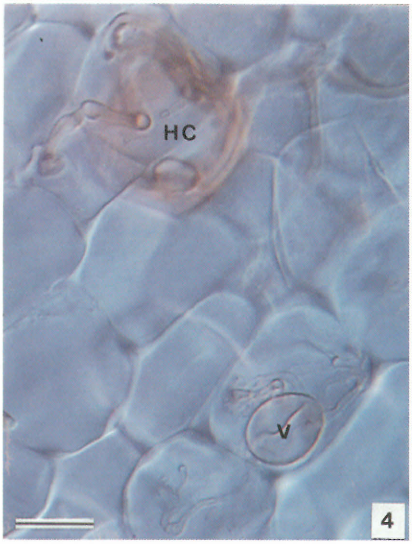

圖4. 叢枝內生菌根菌在火鶴花根部表皮細胞下所形成的菌絲捲(HC)及囊泡(V)。比例尺所示長度為20μm。

Fig. 4. Hyphal coil (HC) and vesicule (V) under epidermal cells. Scale bar=20μm.

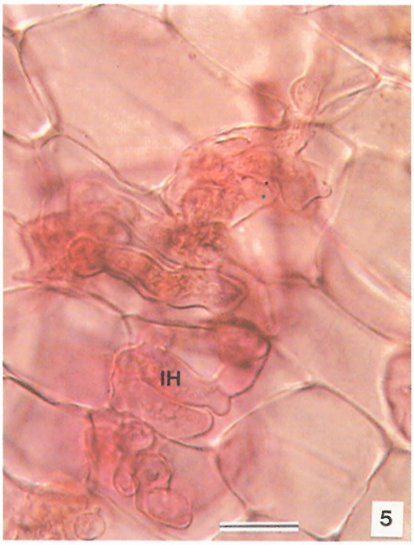

圖5.火鶴花根部細胞內的菌絲(IH)。比例尺所示長度為20μm。

Fig. 5. Intracellular hyphae (IH) of *G. intraradices* inside the root cells of *A. andraeanum*. Scale bar=20μm.

誌　謝

本論文係行政院農委會經費補助下之部份研究成果，謹此申謝。

引用文獻

1. Azcon, R., C. Azcon-Aguilar, and J. M. Barea. 1978. Effects of plant hormones present in bacterial cultures on the formation and responses of VA endomycorrhiza. New Phytol. 80:359-364.

2. Barea, J. M., A. F. Bonis, and J. Olivares. 1983. Interactions between Azospirillum and VA mycorrhiza and their effects on growth and nutrition of maize and ryegrass. Soil Biol. Biochem. 15:706-709.

3. Higaki, T. D. P., and K. W. Van Leanhardt. 1983. *Anthurium* culture in Hawaii. University of Hawaii ·

4. Kunisaki, J. T. 1980. In Vitro propagation of *Anthurium andraeanum* Lind. University of Hawaii ·

5. Lin, S. C. 1998. Ecological study of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and its application in Taiwan. Ph.D. Dissertation, P. 165, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.

6. Lin, Su-Chen, C. G. Wu, S. N. Huang, and K. H. Houng. 1999. Inoculation effect of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria on the growth of asian hybrid lily. J. Agric. Res. China 48:135-142.

7. Morton, J. B. 1985. Variation in mycorrhizal and spore morphology of *Glomus occultum* and *Glomus diaphanum* as influenced by plant host and soil environment. Mycologia 77:192-204.

8. Pierik, R. L., M. P. Van Leeuwen. and C. L. M. Rigter. 1979. Regeneration of leaf explants of *Anthurium andraeanum* Lind in vitro. University wageningen. the Netherlands.

9. Schenck, N. C. and G. S. Smith. 1982. Additional new and unreported species of mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Florida. Mycologia 74:77-92.

10. Teng W. L. 1997. Regeneration of *Anthurium* adventitious shoots using liquid or raft culture. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 49:153-156

11. Tilak, K. V. B. R., and C. S. Singh. 1988. Response of pearl millet (*Pennisteum americanum*) to inocùlation with vesicular-arbuscular mycorrhizae and *Azospirillum brasilense* with different sources of phosphorus. Current Sci. 57:43-44.

12. Wu, C. G., and S. C. Lin. (Eds.) 1998. Technical manual of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan. P. 232.

13. Wu, C. G., Y. S. Liu, and S. Y. Chien. 1995. Microbial dynamics in chicken feces-saw dust compost. J. Agric. Res. China 44:297-312.

Growth Responses of *Anthurium andraeanum* After Microbial Inoculation[1]

Chi-Guang Wu, Su-Chen Lin, Su-Yuang Lin[2], and Keng-Chang Chuang[3]

Summary

We reported that micropropagated *Anthurium andraeanum* during reclamation in greenhouse could produce vesicular-arbuscular mycorrhiza, if inoculated by *Glomus intraradices*, which could significantly promote the plant growth. However, a combined inoculation of rhizobacteria (such as phosphate-solubilizing bacteria and free-living N_2 fixing bacteria) did not enhance the growth effect of *G. intraradices*. The external mycelium and the hyphae in outer cortex 2-3 layers close to epidermis were stained deeply by acid fuchsin, but those inside the deeper tissue could not be stained well. *G. intraradices* did not express its unique feature to produce spores within the roots of *A. andraeanum*.

Key words： VA mycorrhizal fungi, Phosphate-solubilizing bacteria, Free-living N_2 fixing bacteria, *Anthurium andraeanum*, *Glomus intraradices*.

---

1. Contribution No.2014 from Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture.

2. Respectively, Associate Researcher, Assistant Researcher, Research Assistant, Department of Agricultural Chemistry, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.

3. Assistant Researcher, Department of Horticulture, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.